

氏 名	岸 田 邦 博
学 位 の 種 類	博 士 (生活科学)
学 位 記 番 号	第 4679 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Harmful Solvents-Free Techniques for Determining Sulfonamides in Food-Producing Animals (畜産動物における残留サルファ剤の有害性溶媒フリー分析法)
論文審査委員	主 査 教 授 西 成 勝 好 副主査 教 授 湯 浅 勲 副主査 教 授 小 西 洋太郎 副主査 助教授 古 澤 直 人

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は 5 章から構成される。第 1 章では研究の目的、背景を述べている。第 2 章においては使用頻度の高いサルファ剤 6 種を分析対象とした。第 3 章では、世界、特に日本で最も使用頻度の高いサルファ剤 2 種とこれらの主要代謝物であるアセチル体の計 4 種を分析対象とした。第 4 章では、第 3 章で対象とした化合物に加え、代謝を受けたにも関わらず抗菌活性を有するとされる水酸化体も含めた全 8 種の一斉分析を検討した。第 5 章ではこれらの関連を述べ、総括している。

日本国民の食生活はライフスタイルの欧米化とともに、米を中心とした従来の日本型から動物性タンパク食品を多く摂取する欧米型に移行し、畜産食品の消費が年々増加している。これに伴い、畜産経営は大規模化し、畜産動物の飼育形態は、限られた敷地内で、より少ない飼料で、より早く、より多くの家畜を飼育する多頭羽集団飼育へと変化した。このような家畜の生理に反した過密飼育では疾病の危険性が高まり、疾病の予防と治療を目的に多くの抗菌性物質（抗生物質および合成抗菌剤）が動物用医薬品として用いられている。畜産食品の消費拡大ならびに安定生産のため、動物用医薬品の使用は不可欠となっている一方で、これらの医薬品の畜産食品への移行、残留が食品衛生上問題となっている。

これら医薬品の残留の無い安全な畜産食品を生産するためには、畜産動物の生体内における対象化合物の薬物動態を知ることと、残留検査を充実化・円滑化するための有効な分析法を確立し、監視を強化することの 2 点が極めて重要である。

本論文は、畜産動物への使用頻度および輸入・市販畜産食品の残留報告が高い医薬品であるサルファ剤数種を取り上げ、これらサルファ剤の残留モニタリングに有効であるとともに、薬物動態学実験にも適用できる新規分析法の確立を目的とした。特に、分析の迅速性、コストパフォーマンスおよび人体・環境への影響を考慮した。

2. マトリックス固相分散(MSPD)法によるサルファ剤の残留分析法

2-1. 鶏肉中サルファ剤の残留分析

鶏肉中に残留する合成抗菌剤サルファ剤 6 種について、マトリックス固相分散(MSPD)法により前処理(抽出・精製)し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による同定・定量法を確立した。従来法は固相として C_{18} (オクタデシルシリカ)を用い逆相系で行うところを、より安価な固相である酸化アルミニウムを用い順相系 MSPD 法を適用したことにより、サルファ剤溶出前のヘキサン等による洗浄が不要であり、さらにジクロロメタン等の毒性試薬を使用せずかつ短時間で前処理が達成された。それぞれのサルファ剤の平均回収率は 87%以上、変動係数は 9%未満であった。

2-2. 毒性溶媒を使用しない食肉中サルファ剤の残留分析

食肉（ウシ、ブタ、ニワトリ）中に残留する合成抗菌剤サルファ剤 6 種について、MSPD 法により前処理（抽出・精製）し、HPLC による同定・定量法を確立した。1-1 と同様に順相系 MSPD 法を適用し、これまでは HPLC 測定において移動相として毒性有機溶媒であるアセトニトリルおよびジメチルホルムアミドが不可欠であったが、本法は酢酸、エタノールおよび蒸留水のみを移動相として測定できたことから、簡便、低コストかつ安全な分析法が確立できた。

3. 残留サルファ剤およびそれらアセチル代謝物の同時分析法

3-1. 制限浸透型 HPLC カラムを用いた牛乳からの分析

牛乳中に残留する合成抗菌剤サルファ剤のうち SMM、SDM およびそれらアセチル代謝物の迅速分析法を確立した。HPLC 測定には一般に用いられる HPLC 用カラムとは違って、カラム内部が親水性ネットワークで処理されたカラムを用いた。このカラムは、上述の処理によりタンパク等の夾雑物質がカラムに保持されないことから除タンパクなしで直接分析可能であり、試料の前処理が簡略化された。回収率、精度ともに非常に良好であった。分析の全工程を酢酸、エタノールおよび蒸留水のみで行えることから人体・環境にとっても安全な方法である。また本法を適用して大阪市内における牛乳の残留モニタリングをおこなったところ、上記化合物は検出されなかった。

3-2. 有機溶媒を使用しない鶏血漿からの分析

鶏血漿中の SMM、SDM およびそれらのアセチル代謝物の迅速分析法を確立した。試料を硫酸アンモニウム水溶液と混合することで、除タンパクおよび抽出を行った。HPLC 測定の移動相には酢酸ナトリウム水溶液を使用した。平均回収率は 78% 以上、変動係数は 4% 未満であり、本法は有機溶媒を一切使用しない方法で、鶏の薬物動態学実験に有効であると思われる。

4. 鶏血漿、筋肉、肝臓および卵からのサルファ剤およびそれら主要代謝物全 8 種の環境に優しい分析法

鳥の血漿、筋肉、肝臓および卵中の SMM、SDM およびそれら水酸化（OH）およびアセチル（Ac）代謝物の一斉分析法を確立した。対象化合物をハンディタイプ超音波ホモジナイザーでエタノールに抽出後、遠心分離により精製したサンプルを HPLC で測定した。尚、筋肉および肝臓については遠心分離後、上清を Ultrafree MC/PL 遠心用限外濾過ユニットを用いてさらに精製した。HPLC 測定は、対象化合物全 8 種を分析するためグラジエント溶出を適用し、エタノール：酢酸水溶液のグラジエントで 8 種化合物の分離・定量を達成した。本法も毒性有機溶媒を使用しないことから、人体・環境にとって安全な方法である。

5. 以上の知見より、

- 1) 新規 MSPD 法による 6 種サルファ剤の分析法において、有機溶媒の使用およびコスト削減が達成された。
- 2) 牛乳および鶏血漿からのサルファ剤およびアセチル代謝物の分析法では、前処理の簡略化ならびに 100% 水系移動相での分析が可能となった。
- 3) 鶏血漿、組織、卵からサルファ剤および水酸化/アセチル代謝物の分析法では、親化合物および代謝物の計 8 種の一斉分析が初めて確立された。と言える。これらの方法は畜産食品の残留モニタリングのみならず薬物動態学実験にも有効であり、また人体・環境に優しい分析法である。

論文審査の結果の要旨

本論文は食材としての畜産動物における残留薬剤の分析法について検討したものである。日本国民の食生活はライフスタイルの欧米化とともに、畜産食品の消費が年々増加している。畜産経営は大規模化し、多頭羽集団飼育へと変化した。このような家畜の生理に反した過密飼育では疾病の危険性が高まり、疾病の予防と治療を目的に多くの抗菌性物質が動物用医薬品として用いられている。現在、これらの医薬品の畜産食品への移行、残留が食品衛生上問題となっている。本論文では、畜産動物への使用頻度および残留値が高いと報告されてい

る医薬品であるサルファ剤を取り上げ、これらサルファ剤の残留モニタリングに有効であるとともに、薬物動態学実験にも適用できる新規分析法の確立を目的とした。特に、分析の迅速性、コストパフォーマンスおよび人体・環境への影響を考慮した。本論文は5章から構成されている。

第1章序論では研究目的と背景を述べている。

第2章では、マトリックス固相分散法(MSPD法)を前処理法として用いたサルファ剤の残留分析法について述べている。鶏肉中に残留する合成抗菌剤サルファ剤6種について、マトリックス固相分散法により前処理し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による測定法を検討したところ、従来法とは違って、順相系MSPD法を適用したことにより、毒性試薬を使用せず、かつ短時間で前処理が行われることを明らかにしている。次に、食肉(ウシ、ブタ、ニワトリ)中に残留するサルファ剤6種についてのHPLC測定における毒性溶媒を使用しない溶出条件について検討している。既往の研究ではHPLC測定において移動相として毒性の強い有機溶媒であるアセトニトリルおよびジメチルホルムアミドが不可欠であったが、本法では酢酸、エタノールおよび蒸留水のみを移動相として測定できたことから、簡便、低コストかつ安全な分析法を確立している。これらの結果は前処理法およびその後のHPLCによる測定において毒性有機溶媒を用いることなくサルファ剤の分析が可能であることを明らかにしている。

サルファ剤は生体内で代謝をうけ、アセチル代謝物となることが知られている。そこで、第3章では牛乳中および鶏血漿中の残留サルファ剤およびそれらのアセチル代謝物のHISEPカラムを用いた同時分析法について検討している。本カラムを用いることによってタンパク等の夾雑物質がカラムに保持されないことから除タンパクなしで直接分析可能であり、試料の前処理が簡略化されることを見出した。また本法を応用して大阪市内における牛乳の残留モニタリングを行ったところ、上記化合物は検出されなかった。

さらに、鶏血漿中のサルファ剤およびそれらのアセチル代謝物のDiscovery HS PEGカラムを用いた迅速分析法を検討している。試料を硫酸アンモニウム水溶液と混合することで、除タンパクおよび抽出を行った。HPLC測定の移動相には有機溶媒を用いずに酢酸ナトリウム水溶液を使用した。本法での平均回収率は78%以上、変動係数は4%未満であり測定法として条件を満たしている。さらに第4章では鶏血漿、筋肉、肝臓および卵からのサルファ剤およびそれら主要代謝物である水酸化代謝物、アセチル代謝物全8種の一斉分析法について検討している。前処理にはハンディタイプ超音波ホモジナイザーを用い、HPLC測定は、グラジエント溶出を適用して8種化合物の分離・定量を達成した。本法を用いることにより、鶏における薬物動態実験のより詳細な解析が可能となることを示唆した。

第5章では2～4章を要約し、その結果、これらの新しく開発した分析方法是畜産食品の残留モニタリングのみならず薬物動態学実験にも有効であり、また人体および環境に優しい分析法であることを明らかにしている。

以上の審査結果から、本論文は博士(生活科学)の学位に値すると認めた。